

抗菌肽Pup2-EGCG复合物喷雾保鲜剂的制备及其在冷鲜肉中的应用

陈瑶¹, 曹力文¹, 韩梦颖¹, 徐斐然², 董文明¹, 王雪峰^{1*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201) (2. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230009)

摘要: 为了延长冷鲜猪肉的贮藏期, 实验以不同成膜材料及其不同配比为基础膜液, 以及抗菌肽Pup2-EGCG复合物为抑菌剂制备喷雾保鲜剂, 筛选最佳制备配方, 对冷鲜肉进行喷涂处理, 测定冷鲜肉贮藏期间的品质变化(pH值、TVB-N、色差、质构、菌落总数), 进一步探究抗菌肽Pup2-EGCG复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉的保鲜效果。研究结果表明, 抗菌肽Pup2-EGCG复合物喷雾保鲜剂最优配方为: 乳清蛋白:壳聚糖(V/V)为1:6、Pup2-EGCG复合物添加量为1MIC(0.375 mg·mL⁻¹抗菌肽+0.01 mg·mL⁻¹EGCG)。最优工艺下复合物喷雾保鲜剂粒径较小(13 μm), 成膜均匀, 具有良好的雾化效果, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌率分别达到了96.62%和91.56%; 同时可有效减缓冷鲜肉pH值、TVB-N含量的上升, 减缓颜色和质构特性的改变, 有效抑制微生物的生长, 使冷鲜肉的贮藏期从6 d最少延长至12 d。该研究制备的抗菌肽Pup2-EGCG复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉具有良好的保鲜效果, 进一步拓宽了抗菌肽在食品防腐中的应用。

关键词: 抗菌肽; EGCG; 喷雾保鲜剂; 冷鲜肉; 贮藏期

文章编号: 1673-9078(2026)03-163-170

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.0001

Preparation of A Spray Preservative Based on the Antibacterial Pup2-EGCG Peptide Complex and Its Application in Chilled Meat

CHEN Yao¹, CAO Liwen¹, HAN Mengying¹, XU Feiran², DONG Wenming¹, WANG Xuefeng^{1*}

(1.College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2.School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: To prolong the shelf life of chilled pork, spray preservatives were prepared using different ratios of film-forming materials as the base film solution, with the antibacterial Pup2-epigallocatechin gallate (EGCG) peptide complex employed as the bacteriostatic agent. The optimal formulation was selected, and chilled meat treated via spraying. Changes in the quality parameters of chilled meat during storage, including pH, TVB-N, color, texture, and total plate count, were measured to investigate the effect that the Pup2-EGCG complex spray preservative has on the preservation of chilled meat. Results indicated that the optimal formulation for the Pup2-EGCG complex spray preservative was a whey protein-to-chitosan (V/V) ratio of 1:6, with the Pup2-EGCG complex added at 1MIC (0.375 mg·mL⁻¹ antibacterial peptide +0.01 mg·mL⁻¹ EGCG). Under these conditions, the spray preservative exhibited a small particle size (13 μm), uniform film formation, and an excellent atomization effect. The preservative

引文格式:

陈瑶,曹力文,韩梦颖,等.抗菌肽Pup2-EGCG复合物喷雾保鲜剂的制备及其在冷鲜肉中的应用[J].现代食品科技,2026,42(3):163-170.

CHEN Yao, CAO Liwen, HAN Mengying, et al. Preparation of a spray preservative based on the antibacterial Pup2-EGCG peptide complex and its application in chilled meat [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 163-170.

收稿日期: 2025-01-01; 修回日期: 2025-03-12; 接受日期: 2025-03-14

基金项目: 云南省科技人才与平台计划项目(202305AF150132)

作者简介: 陈瑶(2002-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 特色畜产品加工质量安全与功能开发, E-mail: 2609508958@qq.com

通讯作者: 王雪峰(1986-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 特色畜产品与副产物综合利用, E-mail: 364135728@qq.com

demonstrated strong antibacterial activity, with inhibition rates against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* of 96.62% and 91.56%, respectively. In addition, it effectively slowed the increase in pH and TVB-N values, mitigated changes in color and texture, and effectively inhibited the growth of microorganisms, thus extending the shelf life of chilled meat from six days to at least 12 days. The antimicrobial Pup2-EGCG peptide complex spray preservative prepared in this study demonstrated an excellent preservation effect on chilled meat, which further expands the application of antimicrobial peptides in food preservation.

Key words: antimicrobial peptides; epigallocatechin gallate; spray preservative; chilled meat; shelf life

冷鲜肉是将屠宰后的畜禽胴体快速冷却处理,并将温度维持在 0~4 °C 之间的初级加工肉类制品^[1],其质嫩味美、营养价值高。然而,在储存、物流转运和市场分销等关键环节,冷鲜肉极易因内源性脂质过氧化反应及金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等外源性微生物的污染而导致腐败变质,甚至可能引发食物中毒^[2]。目前,国内外冷鲜肉保鲜以低温冷藏和真空包装为主,但汁液流失率较高,货架期较短^[3]。近年来,针对冷鲜肉保鲜及致病菌耐药性的控制,绿色天然抗菌剂的研发与应用备受关注。

前期研究中,本课题组从青刺果蛋白酶解物中筛选出了一种新型抗菌肽 Pup2 (YVVPW)。其杀菌效果好、抑菌谱广、不会产生耐药性,有望成为化学防腐剂的替代品^[4]。但其活性容易受到 pH 值、温度等加工条件的影响^[5]。表没食子儿茶素-3-没食子酸酯 (Epigallocatechin Gallate, EGCG) 是绿茶中提取的抗氧化活性化合物,同时具有抗菌活性^[6]。EGCG 和阳离子抗菌肽具有协同抑菌作用,Pup2 和 EGCG 主要通过疏水相互作用和氢键辅助非共价结合,增强抗菌肽活性,形成稳定复合物,同时可以减少 Pup2 的用量,实现成本节约与防腐效能同步提升^[7-9]。

本研究以抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物为抑菌剂,混入复合成膜基材制备喷雾保鲜剂。通过成膜材料种类、成膜材料配比、Pup2-EGCG 复合物添加量三个因素,以粒径、成膜效果、雾化效果和抑菌率为指标,筛选出制备复合物喷雾保鲜剂的最佳配方。再通过测定冷鲜肉在贮藏期间的 pH 值、TVB-N、色差、质构和菌落总数的变化,探究抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉的保鲜效果,为其在食品防腐中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜猪里脊肉,云南省昆明市盘龙区蒜村农贸市场;青刺果抗菌肽 Pup2 (纯度>95%),武汉丹港生物有限公司;EGCG (纯度>90%),上海源叶生物科技有限公司;金黄色葡萄球菌 (CICC10384)、大肠杆菌

(CICC10003),中国工业菌种保藏中心;平板计数琼脂 (PCA),广东环凯生物科技有限公司;冰乙酸 (分析纯),药集团化学试剂有限公司;甘油 (食品级),天津致远化学试剂有限公司;氯化钠 (分析纯),四川西陇科学有限公司;HCl (优级纯),重庆川东化工厂。

78-2JJ-1 磁力搅拌器,常州澳华仪器有限公司;PHS-3C pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;TA-Xtplus 质构仪,上海奥豪斯公司;CR-400/410 色差仪,柯尼卡美能达株式会社;FSH-2A 可调高速均质机,常州越新仪器制造有限公司;LDZM-60KCS 立式压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;Multiskan Go 酶标仪,Thermo Scientific。

1.2 实验方法

1.2.1 喷雾保鲜剂配制与效果评价

1.2.1.1 抗菌肽Pup2-EGCG复合物的制备

用质量分数为 1% 的壳聚糖溶液溶解抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物,使其达到最小抑菌浓度 (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ($0.375 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 抗菌肽 Pup2+ $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ EGCG)。室温孵育 2 h 备用。

1.2.1.2 抗菌肽Pup2-EGCG复合物保鲜喷雾剂的制备

参考孙书境^[10]的方法,并进行适当修改。配制 2% (m/V) 的蛋白溶液,70 °C 水浴加热 30 min,放置常温。然后,配制质量分数为 1% 的壳聚糖溶液。将上述蛋白溶液和壳聚糖溶液以一定比例混合,加入质量分数为 2% (1.00 g) (基于溶液质量) 的甘油,磁力搅拌 2 h^[11]得到复合物喷雾剂。将孵育好的抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物混入复合物喷雾剂中,装入喷雾瓶制得复合物保鲜喷雾剂。

1.2.1.3 喷雾剂配方优化

(1) 成膜材料的筛选:分别取三种不同的蛋白成膜基材 (乳清蛋白、大豆蛋白和明胶与壳聚糖进行复配)。蛋白溶液与壳聚糖溶液的体积比固定为 1:6,添加 1 倍最小抑菌浓度的 Pup2-EGCG 复合物。制备好的喷雾剂以粒径、PDI 和成膜效果为指标。

粒径、PDI 测定方法:将制备好的复合膜液用超纯水稀释 10 倍。取一定液体置于比色皿中,高度为比色皿的 2/3,置入粒径电位分析仪。使用软件 Particle

Solutions v3.5 进行测试, 粒径及 PDI 测量选择 DLS 模式, 每个样品重复测量三次。电位测量选择 PALS Zeta 模式, 重复测量 6 次。

成膜效果测定方法: 溶液加入培养皿中, 置于 50 ℃箱烘 6 h 后取出, 观察其成膜效果。

(2) 乳清蛋白: 壳聚糖复配比例的筛选: 以乳清蛋白: 壳聚糖比例 (*V/V*) 为 1:2、1:3、1:6、1:9 和 1:12 制备喷雾剂膜液。以雾化效果和抑菌率为指标筛选最适比例。

(3) 抗菌肽 Pup2-EGCG 的添加量的探究: 选用乳清蛋白: 壳聚糖 (*V/V*) 为 1:6, 混入不同含量的 Pup2-EGCG 复合物, 即 0.5 倍 MIC 浓度, 1 倍 MIC 浓度, 2 倍 MIC 浓度。制得的抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物喷雾剂用 96 孔板法测定抑菌率。

1.2.1.4 雾化效果评价

将乳清蛋白: 壳聚糖 (*V/V*) 为 1:2、1:3、1:6、1:9 和 1:12 的样品灌装到 50 mL 的聚乙烯塑料喷雾瓶中。选取 11 名同学对喷雾剂的雾化效果进行感官评价, 选择最优比例。

表 1 喷雾剂感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of sprays

项目	0~30 分	30~70 分	70~100 分
雾化效果 (100分)	喷出的膜液呈一条直线, 基本没有雾化效果	喷出的膜液轻微扩散, 有一定雾化效果	喷出的膜液扩散均匀, 雾化效果较好

1.2.1.5 抑菌率的测定

96 孔板中依次加入 190 μL LB 液体培养基、50 μL 喷雾剂、10 μL 菌液, 每个样品做 3 个平行。并用加无菌水代替乳清蛋白壳聚糖膜液做阴性对照组, 一个不加菌的阳性对照。37 ℃培养箱培养 12 h 后测量其吸光度 OD₆₀₀ 并计算抑菌率, 见公式 (1):

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

(1)

式中:
X——抑菌率;
*A*₀——对照组的吸光度;
*A*₁——添加乳清蛋白壳聚糖复合膜液吸光度。

1.2.2 复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉保鲜效果的测定

1.2.2.1 冷鲜肉处理

冷鲜肉块切成大小均匀的 3×3×3 cm³ 正方体小块, 分成三组。超纯水喷雾处理为空白对照组, 抗菌肽 Pup2-EGCG 喷雾剂处理为复合物喷雾剂组, 不添加抗菌肽 Pup2-EGCG 的喷雾剂处理为空白喷雾剂组。处理完的肉样置于放 4 ℃冰箱。1、3、6、9、12 d 时取出分别测定新鲜度指标。

1.2.2.2 pH值的测定

pH 值的测定参考 GB 5009.237-2016 《食品安全国家标准食品 pH 值的测定》^[12]。取处理好的三组冷鲜肉样品 (10 g) 加入 100 mL 氯化钾溶液, 用均质器进行均质。室温 20 ℃校准与测定, 用校准后的 pH 值计测量上清液的 pH 值。

1.2.2.3 挥发性盐基氮的测定

参考 GB 5009.228-2016 《食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定》^[13]。每组样品重复测量三次, 同时做空白对照确保数据准确性。

1.2.2.4 色差的测定

使用手持色差仪将冷鲜肉贴紧灯源处, 记录 *L*^{*}、*a*^{*}、*b*^{*} 值。

1.2.2.5 质构的测定

质构仪安装探头 P36R, 采用 TPA 模式, 测定不同贮藏天数肉样的硬度、回复性和咀嚼性的变化。

表 2 TPA模式测试参数

Table 2 TPA mode test parameters

参数	数值
测前速度	5 mm·s ⁻¹
测中速度	1 mm·s ⁻¹
测后速度	2 mm·s ⁻¹
目标模式	位移 3 mm
时间	5 s
触发模式	Auto (force)
触发力	20 g

1.2.2.6 菌落总数的测定

参考 GB 4789.2-2022 《食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定》^[14]。取 5 g 肉样转移至无菌均质袋中, 加入 45 mL 灭菌生理盐水。用锤头敲击无菌均质袋至肉样粉碎, 此时记为 0 稀释度。取 1 mL 肉样原液加入 9 mL 灭菌生理盐水, 依次稀释至不同梯度。选取合适的稀释度, 取 1 mL 接入平板。一个样品接种两个平板, 同时做两组平行。随后放入 37 ℃培养箱中培养 24 h 观察每组菌落生长情况。每组样品平行测定 3 次, 结果以 lg CFU/g 表示。

1.3 数据处理

实验所有数据均重复测量三次, 以“平均值 ± 标准偏差”的形式表示。数据分析采纳 IBS SPSS Statistics 22 软件进行显著性差异及皮尔逊相关性。单因素方差分析采用 Duncan 检验模型, 显著性水平为 (*P* < 0.05), 图表的绘制与分析采用 Origin 2024 64Bit 软件。

2 结果与分析

2.1 喷雾剂配方优化

2.1.1 成膜材料筛选

由表 3 可知，乳清蛋白-壳聚糖的粒径、PDI 均是最小。颗粒粒径大小的分布对系统的稳定性有着极大的影响，一般情况下粒径越小体系越稳定^[15]。Sawsan 等^[16]将壳聚糖与乳清蛋白混合以制备用于食品包装应用的食用涂层，发现膜的物理化学性质和机械强度均得到改善。该实验所制备的明胶-壳聚糖和大豆蛋白-壳聚糖膜液均存在不均匀小孔，说明体系不均匀，与粒径、PDI 的测量结果一致，而乳清蛋白-壳聚糖膜液成膜完整、均匀。因此，最终确定乳清蛋白-壳聚糖为复配成膜基材。

表 3 三种成膜材料的粒径数据			
Table 3 Particle size data of three film-forming materials			
	粒径/ μm	PDI	电位/ V
明胶-壳聚糖	23 ± 6.49	0.306 ± 0.14	3.67 ± 0.95
乳清蛋白-壳聚糖	13 ± 1.68	0.194 ± 0.01	-12.41 ± 0.80
大豆蛋白-壳聚糖	23 ± 5.32	0.292 ± 0.05	-2.72 ± 0.90

2.1.2 成膜材料配比

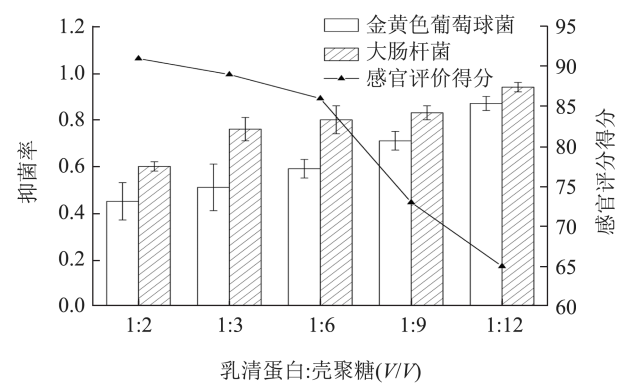


图 1 不同比例的喷雾剂膜液对冷鲜肉抑菌率和感官评价的影响

Fig.1 Effects of different proportions of spray film on bacteriostatic rate and sensory evaluation of chilled meat

不同配比的喷雾剂的感官评价及抑菌效果如图 1 所示，抑菌率随壳聚糖占比的增加而升高，乳清蛋白:壳聚糖 (V/V) 为 1:2 的喷雾剂感官评价得分最高 (91)，而喷雾剂感官评价得分随壳聚糖占比的增加而降低。乳清蛋白:壳聚糖比例从 1:2 增加到 1:12，对金黄色葡萄球菌的抑菌率的变化从 45.11% 增加到 87.32%，对大肠杆菌的抑菌率从 60.12% 增加到 94.77%。可能是壳聚糖质量浓度的增加抑制了微生物的生长，但高质量浓度的壳聚糖使得体系的雾化效

果降低，体系过于粘稠无法形成喷雾^[17]。乳清蛋白:壳聚糖 (V/V) 为 1:6 的复合物喷雾剂雾化效果优于 1:9 和 1:12，同时对大肠杆菌的抑菌效果达到 80%。Cristina 等^[18]发现壳聚糖在高质量浓度 ($>200\text{ ppm}$) 时展现出良好的抗菌活性，可能是高质量浓度壳聚糖通过细菌絮凝实现的杀菌作用。即壳聚糖质量浓度的增加能够增强其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果。综合上述结果，确定乳清蛋白:壳聚糖 (V/V) 为 1:6 作为最佳复合物喷雾剂配比。

2.1.3 复合物喷雾保鲜剂抑菌效果

MIC 是评价抗菌活性的关键指标，但 EGCG 固有的不稳定性限制了其在食品中的应用^[19]。如图 1 所示添加 1 倍 MIC 浓度 Pup2-EGCG 复合物 (即 $0.375\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 抗菌肽 + $12.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ EGCG) 的复合物喷雾保鲜剂抑菌效果最好，对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌率分别为 96.62% 和 91.56%，对两种常见致病菌均达到了较好的抑制效果。Han 等^[8]的研究结果表明 Pup2 和 EGCG 表现出协同作用，分别使最小抑菌浓度降低 4 倍和 8 倍。金黄色葡萄球菌抑菌率的显著提高可以更好的体现出 Pup2-EGCG 与喷雾剂的协同抑菌作用，最终确定 1 倍 MIC 添加量为最优复合物添加量。

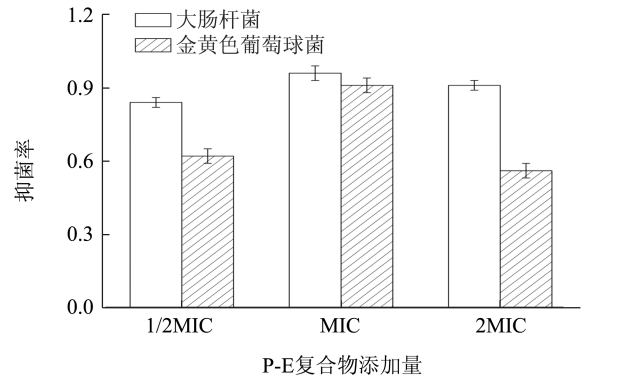


图 2 抗菌肽 Pup2-EGCG 的添加量对抑菌率的影响

Fig.2 The effect of the amount of antimicrobial peptide Pup2-EGCG on the bacteriostatic rate

2.2 复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉贮藏品质的影响

2.2.1 复合物喷雾保鲜剂对冷鲜肉 pH 值的影响

pH 值是判断冷鲜肉在贮藏期内品质变化的重要指标之一，三种不同方式处理的冷鲜肉在 0~12 d 贮藏期间内 pH 值变化情况如图 3 所示。新鲜肉 pH 值在 5.8~6.2 的范围内，随着贮藏时间的延长，肉中内源蛋白酶和微生物分泌的蛋白酶使肌肉中的蛋白质降解为多肽和氨基酸，并释放含氮碱性物质，升高肉的 pH 值^[20]，pH 值在 6.3~6.6 的范围内即被视为次鲜肉，6.7 以上则

是变质肉^[21]。空白对照组在贮藏至第3天时 pH 值升高至 6.74, 说明冷鲜肉已经变质; 而复合物喷雾剂组在第6天时 pH 值为 6.62, 到第9天才达到 6.87。类似研究中, 石林玥^[22]发现用 rMytichitin-CB 抗菌肽处理冷鲜猪肉的 pH 值均低于空白对照。随着贮藏时间的延长, 3 组肉的 pH 值都逐渐升高, 而复合物喷雾剂和空白喷雾剂组处理的冷鲜肉 pH 值上升趋势较对照组来说更缓慢。这可能是因为复合膜具有阻氧性, 减缓了脂肪的氧化作用^[23], 同时 Pup2-EGCG 缓释抗菌肽和多酚, 抑制微生物的生长繁殖, 减少微生物代谢产生的酸性物质, 从而减缓 pH 值的升高。综上所述, 复合物喷雾保鲜剂处理能有效抑制冷鲜肉中微生物的生长繁殖导致的 pH 值的上升。

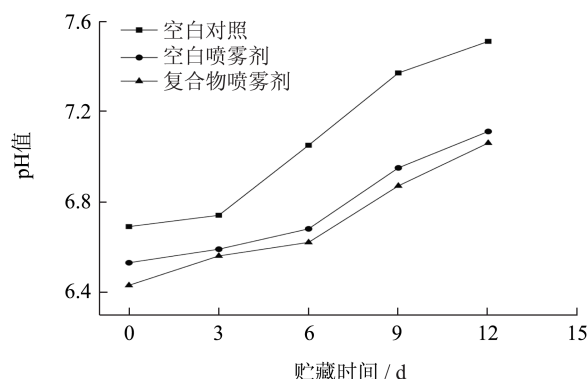


图3 复合物喷雾保鲜剂对冷藏期间冷鲜肉 pH 值的影响

Fig.3 Effect of compound spray preservative on pH of chilled meat during cold storage

2.2.2 复合物喷雾保鲜剂对TVB-N含量的影响

在酶和细菌的作用下, 肉类中的少量蛋白质逐渐分解成肽和氨基酸, 最后降解成氨、胺等小分子化合物, 这些含氮的小分子化合物具有高度挥发性, 是肉类腐败气味的主要来源^[24]。这些小分子化合物的含量能反应出肉中蛋白质的分解情况, 肉的新鲜度越高, TVB-N 含量越低^[25]。由图4可知前3 d TVB-N 含量均没有超过 20 mg/100 mL^[26], 表示在 4 °C 储存下肉品仍处于成熟期、新鲜的状态。在第6天时, 对照组的 TVB-N 含量超标, 为 28.6 mg/100 mL, 而复合物喷雾剂处理组和空白喷雾剂组的 TVB-N 含量为 8.16 mg/100 mL 和 15.8 mg/100 mL, 没有超出标准。在类似研究中, 高立红等^[27]用乳糖酸复配壳聚糖和茶多酚制备复合保鲜剂应用于冷鲜肉保鲜, 第6天时复合处理组 TVB-N 含量高于复合物喷雾剂处理组, 为 11.84 mg/100 mL。在第9天, 对照组和空白喷雾剂组的 TVB-N 含量均超标, 而复合物喷雾剂组的 TVB-N 含量没有超标, 为 19.5 mg/100 mL, 显著低于其他两组 ($P < 0.05$)。结

果表明, 复合物喷雾剂处理能明显降低 TVB-N 含量, 有效减缓冷鲜肉的腐败。

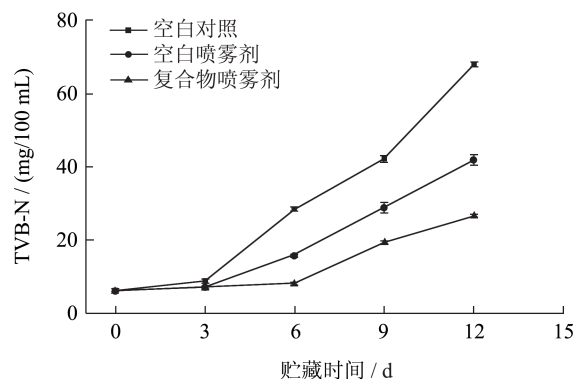


图4 复合物喷雾保鲜剂对冷藏期间冷鲜肉 TVB-N 值的影响

Fig.4 Effect of compound spray preservative on TVB-N value of chilled meat during cold storage

2.2.3 复合物喷雾保鲜剂对色差和质构的影响

辨识猪肉的颜色是鉴定猪肉品质好坏的常用方法。 L^* 表征的是试样亮度水平, 数值增加标志着肉品颜色更趋近于明亮。由表4可知, 第0天时, 各组样品 L^* 均在 30 以上, 随着贮藏时间的延长, L^* 逐渐下降。喷雾喷涂的两个组别的 L^* 相较于对照组下降的趋势较缓, 且复合物喷雾剂的效果显著最好 ($P < 0.05$), 可以较好的抑制冷鲜肉在储藏 12 d 内 L^* 的下降。喷雾喷涂的两个组别 L^* 相较于对照组下降的趋势较缓, 且复合物喷雾剂的效果显著最好 ($P < 0.05$), 可以较好的抑制冷鲜肉在储藏 12 d 内 L^* 的下降。 a^* 反映了红度, 其数值的下降意味着肉色中红色成分的减少。第0天时, 各组样品 a^* 均在 14 以上, 在贮藏前 3 d a^* 值变化较小, 第3天后, a^* 呈下降趋势, 冷鲜肉在储藏 12 d 内喷雾剂 a^* 值相较于对照组的下降趋势较缓, 且复合物喷雾保鲜剂组的效果更为显著。Liu 等^[28]发现百里香精油与壳聚糖复合可以减缓猪肉颜色的改变。而 b^* 则涉及黄度范畴, 该值的升高对应肉色中黄色色调的增强。根据肌肉肉色形成的原理, 肌肉的颜色主要是由肌红蛋白和血红蛋白组成^[29], 其中肌红蛋白比例约占 2/3。肌红蛋白本体呈现紫红色, 其分子核心含有的铁原子在与氧气结合后, 会转变为鲜红色的氧合肌红蛋白形态, 这一特征被视为生鲜肉类的典型标志。但随时间推移及新鲜度的衰减, 肌红蛋白与氧的结合能力逐步减弱, 进而促使氧合肌红蛋白经历氧化过程, 转化为高铁形式的肌红蛋白, 导致猪肉色泽加深, 呈现出褐色调, 这一变化直观反映了肉品新鲜度的下降。在颜色上显示即为肉的亮度逐渐发暗, 红色逐渐减退, 脂肪氧化变黄。

表 4 复合物喷雾保鲜剂对冷藏期间冷鲜肉色差和质构的影响

Table 4 Effects of compound spray preservatives on color difference and texture of chilled meat during cold storage							
贮藏时间/d	组别	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	硬度	回复性	咀嚼性
0	对照组	35.3 ± 1.25 ^a	14.51 ± 0.09 ^a	10.78 ± 0.33 ^a	399.65 ± 16.11 ^b	0.34 ± 0.05 ^c	234.26 ± 18.10 ^b
	空白喷雾	31.5 ± 1.25 ^b	15.20 ± 0.09 ^a	11.22 ± 0.33 ^a	369.02 ± 7.77 ^c	0.43 ± 0.09 ^b	214.38 ± 10.34 ^c
	复合物喷雾	31.2 ± 1.25 ^c	15.11 ± 0.09 ^a	10.95 ± 0.33 ^a	417.23 ± 9.04 ^a	0.45 ± 0.05 ^a	245.22 ± 21.17 ^a
3	对照组	32.6 ± 0.91 ^a	13.8 ± 0.66 ^c	9.68 ± 0.06 ^c	316.35 ± 7.78 ^b	0.28 ± 0.08 ^c	206.54 ± 15.77 ^b
	空白喷雾	30.6 ± 0.78 ^c	14.8 ± 0.04 ^a	10.4 ± 0.08 ^b	297.83 ± 11.41 ^c	0.39 ± 0.10 ^b	179.36 ± 19.26 ^c
	复合物喷雾	31.0 ± 0.42 ^b	14.7 ± 0.81 ^b	10.6 ± 1.36 ^a	343.05 ± 9.14 ^a	0.41 ± 0.05 ^a	231.50 ± 10.97 ^a
6	对照组	29.9 ± 0.51 ^b	8.72 ± 0.82 ^c	8.78 ± 0.92 ^c	226.28 ± 9.54 ^b	0.17 ± 0.01 ^c	171.21 ± 18.82 ^b
	空白喷雾	28.0 ± 0.14 ^c	11.6 ± 0.31 ^b	11.6 ± 0.62 ^a	221.68 ± 28.32 ^c	0.28 ± 0.06 ^b	152.32 ± 21.69 ^c
	复合物喷雾	30.4 ± 0.65 ^a	12.0 ± 0.88 ^a	9.53 ± 0.06 ^b	262.49 ± 23.14 ^a	0.31 ± 0.02 ^a	205.62 ± 24.29 ^a
9	对照组	27.8 ± 1.33 ^a	7.41 ± 1.03 ^c	10.0 ± 0.76 ^a	163.42 ± 15.63 ^c	0.09 ± 0.08 ^c	138.25 ± 27.86 ^b
	空白喷雾	26.6 ± 1.36 ^a	9.15 ± 0.42 ^b	10.8 ± 1.36 ^a	186.54 ± 15.21 ^b	0.19 ± 0.03 ^b	138.56 ± 19.45 ^b
	复合物喷雾	28.8 ± 0.84 ^a	9.94 ± 0.08 ^a	8.92 ± 1.62 ^a	213.44 ± 18.25 ^a	0.24 ± 0.014 ^a	141.95 ± 15.36 ^a
12	对照组	25.0 ± 0.65 ^a	5.99 ± 1.44 ^c	12.8 ± 0.43 ^a	118.78 ± 7.69 ^c	0.05 ± 0.06 ^c	81.51 ± 9.84 ^c
	空白喷雾	25.1 ± 1.63 ^a	6.56 ± 0.12 ^b	11.4 ± 1.54 ^b	146.82 ± 23.41 ^b	0.11 ± 0.08 ^b	95.76 ± 12.11 ^b
	复合物喷雾	26.3 ± 0.87 ^a	7.43 ± 0.68 ^a	9.55 ± 1.99 ^c	153.14 ± 12.11 ^a	0.16 ± 0.00 ^a	103.98 ± 8.32 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

对储藏不同天数的冷鲜肉进行 TPA 测量可以实现更为全面的质构分析, 通过模拟食物咀嚼测量肉的硬度、黏弹性等来分析冷鲜肉的新鲜程度^[30]。随着储存时间的延长, 在微生物和酶的作用下, 冷鲜肉肌肉纤维组织和蛋白质结构被分解破坏, 破坏了网状结构^[27], 导致肉的硬度和咀嚼性下降, 弹性降低, 水分流失。在肉品变质进程中, 微生物群体大量增殖, 期间微生物代谢活动将产生物质沉积于肉表面, 此现象直接导致肉质呈现黏滑状态, 成为判断肉品新鲜度降低的重要表征之一。由表 4 可知保鲜剂处理组冷鲜肉硬度和咀嚼性在贮藏后期显著高于对照组 ($P<0.05$), 这可能是由于壳聚糖, 抗菌肽-EGCG 的共同作用减缓了微生物和酶对冷鲜肉蛋白质和肌肉纤维组织的破坏^[31]。上述分析表明, 随着冷藏期的延长, 不论是经过复配保鲜剂处理的冷鲜肉样本, 还是超纯水处理的对照组冷鲜肉, 其硬度、咀嚼特性和弹性值均展现出逐步下降的趋势, 且对照组的下降趋势最快, 其次是空白喷雾剂组, 最后是复合物喷雾剂组。Wu 等^[32]研究发现将姜黄素- β -环糊精复合物应用于冷鲜肉保鲜可以减缓硬度的下降。复配保鲜剂处理组的冷鲜肉硬度和咀嚼性显著优于对照组 ($P<0.05$), 说明复合物喷雾剂保

鲜剂能在一定程度上延缓冷鲜肉的腐败变质, 维持冷鲜肉的质构特性。

2.2.4 复合物喷雾保鲜剂对菌落总数的影响

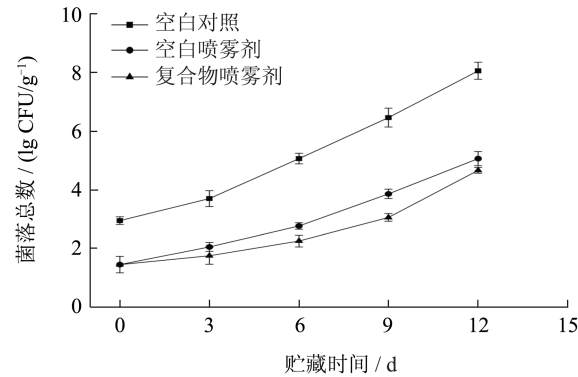


图 5 复合物喷雾保鲜剂对冷藏期间冷鲜肉菌落总数的影响
Fig.5 Effect of compound spray preservative on the total number of colonies of chilled meat during cold storage

如图 5 所示, 冷鲜肉的初始菌落总数为 3.00 lg CFU/g, 各实验组的菌落总数均随着贮藏时间的延长而增加, 且增长趋势显著 ($P<0.05$)。相比复合保鲜剂组, 对照组样品的菌落总数增长速度最快, 在第 9 天时对照组的菌落总数值为 6.50 lg CFU/g, 已超过规定的腐败

限值 6.00 lg CFU/g (《GB 16869-2005》)。复合物喷雾剂和空白喷雾剂组处理的样品的菌落总数均显著低于对照组,且复合物喷雾剂组的菌落总数显著最低,为 3.10 lg CFU/g ($P<0.05$)。因此添加复合物喷雾保鲜剂复配保鲜剂处理的样品菌落总数增幅最慢,这表明复合保鲜剂抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物组与复配喷雾剂发挥了协同具有较好的抑菌效果抑菌的作用。对照组的菌落总数在第 9 天时达到腐败限值,而喷雾剂组的菌落总数在第 12 天时为 4.70 lg CFU/g,仍低于腐败限值,王鹏等^[33]研究也发现经戊糖乳杆菌素上清液处理的冷鲜肉贮藏 12 d 菌落总数仍未超标。这表明复合物喷雾保鲜剂喷雾剂组的复配保鲜剂对抑制冷鲜肉中微生物的生长和繁殖具有良好的抑制作用。

3 结论

实验优化了抗菌肽 Pup2-EGCG 复合物喷雾保鲜剂的配方为乳清蛋白:壳聚糖(V/V)为 1:6,抗菌肽 Pup2-EGCG 添加量为 1 倍 MIC,该保鲜剂成膜均匀,具有良好的雾化效果,且对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有较高的抑菌效果。将所得的复合物喷雾保鲜剂应用于冷鲜肉的保鲜实验中,能有效减缓冷鲜肉中 TVB-N 和 pH 值的上升,并降低菌落总数,使冷鲜肉货架期有效从 6 d 延长至 12 d。研究为新型喷雾保鲜剂的应用提供依据。

参考文献

- [1] YUAN H B, LI W, CHEN C, et al. The role of bacterial nanocellulose mats encapsulated with cinnamaldehyde on chilled meat preservation [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2023, 58(2): 880-889.
- [2] CHANG W, LIU F, SHARIF R H, et al. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 50-61.
- [3] 高立红,钱冠林,刘金忠,等.乳糖酸复合保鲜剂对冷鲜肉品质的影响[J].食品工业科技,2021,42(19):314-320.
- [4] ABOLFAZL J, ALIREZA N, ALI S M, et al. Synergistic effect of two antimicrobial peptides, Nisin and P10 with conventional antibiotics against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates [J]. Microbial Pathogenesis, 2021, 150: 104700.
- [5] 王吉荣,韩涵,邓莉.抗菌肽Epinecidin-1的研究进展[J].药学实践与服务,2023,41(7):400-402,427.
- [6] 陈小敏,黄泽璇,谭礼浩,等.表没食子儿茶素没食子酸酯对食源性致病菌抑菌机理及应用研究[J].食品与机械,2024,40(8):127-134.
- [7] CAIAFFA, SAMPAIO K, SANTOS D, et al. Cytocompatibility and synergy of EGCG and cationic peptides against bacteria related to endodontic infections, in planktonic and biofilm conditions [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2021, 13(6): 1-12.
- [8] HAN M Y, HUANG Z Y, PENG Y H, et al. Multi-spectroscopic analysis and molecular simulations provide insights into the noncovalent interactions between the novel antimicrobial peptide Pup2 and Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) [J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104707.
- [9] LIN D Q, SUN L C, HUO W S, et al. Improved functionality and safety of peptides by the formation of peptide-polyphenol complexes [J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 141: 104193.
- [10] 孙书境.EGCG的添加对大豆蛋白壳聚糖复合膜的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2022.
- [11] 汪庆,张瑞芬,王亚楠,等.抗菌肽结构改造与人工智能研发策略[J].微生物学报,2022,62(11):4353-4366.
- [12] GB 5009.237-2016,食品安全国家标准食品pH值的测定[S].
- [13] GB 5009.228-2016,食品安全国家标准食品挥发性盐基氮的测定[S].
- [14] GB 4789.2-2022,食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定[S].
- [15] TIAN H X, LI W, CHEN C, et al. Antibacterial absorbent mat based on oxidized bacterial nanocellulose for chilled meat preservation [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2023, 40: 101194.
- [16] SAWSAN A A, ORASS T A, RAQAD R A, et al. Development of chitosan/whey protein hydrolysate composite films for food packaging application [J]. Journal of Composites Science, 2023, 7(3): 94.
- [17] 宋俊梅,张昕,高玉荣.壳聚糖稳定性及抑菌作用研究[J].重庆工商大学学报(自然科学版),2020,37(3):17-22.
- [18] CRISTINA A, MIRCEA C D, SORINA N N, et al. Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(14): 7449.
- [19] MEHDI N, JOE M R, HASSAN A G. Antioxidant and antimicrobial activities of (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and its potential to preserve the quality and safety of foods [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2018, 17(3): 732-753.
- [20] 李文东,韩玲,余群力,等.冷却方式对牦牛肉贮藏过程中品质变化的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(20):199-207.
- [21] TANG Z L, CHEN H M, ZHANG M, et al. Antibacterial mechanism of 3-Carene against the meat spoilage bacterium *Pseudomonas lindesnes* and its application in pork during refrigerated storage [J]. Foods, 2021, 11(1): 92.
- [22] 石林玥.Mytichitin-CB抗菌肽在冷鲜猪肉防腐保鲜中的作用研究[D].天津:天津科技大学,2019.
- [23] MANON G, GIANA A, SANDRA D, et al. Resilient high oxygen barrier multilayer films of nanocellulose and polylactide [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 312: 120761.
- [24] 李昕.绿球藻多糖的提取、抗氧化和复配保鲜液对冷鲜猪肉保鲜效果研究[D].延吉:延边大学,2022.
- [25] ALAA E D B A, BENJAMIN W B H, STEPHEN G G, et al. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A

review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 58(4): 1234-1245.

[26] 吴杨林,孙理,李亦欣,等.聚乙烯醇-壳聚糖基抑菌指示膜的制备及在冷鲜肉中的应用[J].食品科学,2022,43(23):202-210.

[27] 高立红,钱冠林,刘金忠,等.乳糖酸复合保鲜剂对冷鲜肉品质的影响[J].食品工业科技,2021,42(19):314-320.

[28] LIU T, LIU L. Fabrication and characterization of chitosan nanoemulsions loading thymol or thyme essential oil for the preservation of refrigerated pork [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 1509-1515.

[29] 魏青柳.可食性抑菌保鲜膜的制备及其在酱卤肉制品中的应用[D].石家庄:河北经贸大学,2023.

[30] JACOBO P, DIEGO C L, ANE M I, et al. Application of texture analysis methods for the characterization of cultured meat [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 3898.

[31] HUANG Y L, LIU Y W, LIU W T, et al. Synergistic inhibitory effects of EGCG and chitosan or sodium alginate on 5-hydroxymethylfurfural formation in biscuits [J]. Food Bioscience, 2024, 59: 103695.

[32] WU J R, LI J, XU F, et al. Effective preservation of chilled pork using photodynamic antibacterial film based on Curcumin- β -cyclodextrin complex [J]. Polymers, 2023, 15(4): 1023-1023.

[33] 王鹏,朱英莲,王世清.戊糖乳杆菌素的抑菌作用及对冷鲜肉的保鲜效果研究[J].食品科技,2018,43(12):138-142.